

**(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)**

**(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international**



**(43) Date de la publication internationale  
17 octobre 2002 (17.10.2002)**

PCT

**(10) Numéro de publication internationale  
WO 02/082072 A1**

- (51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : G01N 30/46, 30/90**
- (21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR02/01201**
- (22) Date de dépôt international : 5 avril 2002 (05.04.2002)**
- (25) Langue de dépôt : français**
- (26) Langue de publication : français**
- (30) Données relatives à la priorité : 01/04745 6 avril 2001 (06.04.2001) FR**
- (71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : BION-ISIS S.A. [FR/FR]; 18-20, avenue Edouard Herriot, Parc Technologique, Bâtiment "Le Carnot", Hall 9, FR-92350 Le Plessis Robinson (FR).**
- (72) Inventeurs; et**
- (75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : MANACH, Michel [FR/FR]; 1, rue Bassc de la Terrasse, FR-92190 Meudon (FR). MINCSOVICS, Emil [HU/HU]; Szent István u.l., H-Szentendre (HU). TAPA, Barnabás [HU/HU]; Gervay u. 38, H-1147 Budapest (HU).**
- (74) Mandataires : LAZARD, Florence etc.; Ernest Gutmann-Yves Plasseraud S.A., 3 rue Chauveau-Lagarde, F-75008 Paris (FR).**
- (81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.**

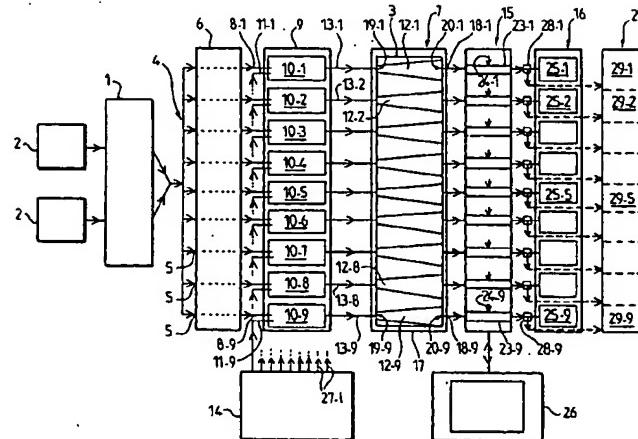
*[Suite sur la page suivante]*

**(54) Titre: INSTALLATION FOR CONTINUOUSLY TREATING SAMPLES, BY SEPARATION ON A STATIONARY PHASE, UNDER FORCED FLOW**

**(54) Titre : INSTALLATION DE TRAITEMENT D'ECHANTILLONS EN CONTINU, PAR SEPARATION SUR UNE PHASE STATIONNAIRE, SOUS FLUX FORCE**



WO 02/082072 A1



**(57) Abstract:** The invention concerns an installation for treating samples by chromatographic separation comprising: i) mobile phase supplying means (1, 2, 4), sample supplying means (14), a plurality of injectors (10-i) comprising each a first intake (11-i) for receiving a sample, a second intake (8-i) connected to the supply means, and an outlet (13-i) for delivering the mobile phase and/or the sample; ii) a stationary phase (3) defining a plurality of channels (12-i) for treating the samples each starting in a selected first site (19-i) and emerging in a second selected site (20-i); and iii) a chamber (17) housing the stationary phase (3) and comprising pressurising means for applying an external pressure on one surface of the stationary phase, a plurality of intakes connected each to the outlet (13-i) of an injector (10-i) for delivering the mobile phase and/or the samples at the first sites (19-i), and a plurality of outlets (18-i) for evacuating the plurality of samples treated in the channels (12-i) and reaching the various second sites.

*[Suite sur la page suivante]*



(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GII, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale .

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

---

(57) Abrégé : Une installation de traitement d'échantillons par séparation chromatographique comprend i) des moyens d'alimentation en phase mobile (1, 2, 4), des moyens d'approvisionnement en échantillons (14), une multiplicité d'injecteurs (10-i) comportant chacun une première entrée (11-i) pour recevoir un échantillon, une seconde entrée (8-i) raccordée aux moyens d'alimentation, et une sortie (13-i) pour délivrer la phase mobile et/ou l'échantillon, ii) une phase stationnaire (3) définissant une multiplicité de canaux (12-i) de traitement d'échantillon débutant chacun en un premier endroit choisi (19-i) et débouchant en un second endroit choisi (20-i), et iii) une chambre (17) logeant la phase stationnaire (3) et comportant des moyens de pressurisation pour appliquer une pression externe sur une face de la phase stationnaire, une multiplicité d'entrées raccordées chacune à la sortie (13-i) d'un injecteur (10-i) pour délivrer la phase mobile et/ou les échantillons au niveau des premiers endroits (19-i), et une multiplicité de sorties (18-i) pour évacuer la multiplicité d'échantillons traités dans les canaux (12-i) et parvenus au niveau des différents seconds endroits.

**Installation de traitement d'échantillons en continu, par séparation sur une phase stationnaire, sous flux forcé**

5 L'invention concerne le domaine de la séparation des constituants d'échantillons complexes par chromatographie.

Les techniques de chromatographie, appelées « chromatographie liquide sur colonne » et « chromatographie planaire », permettent de séparer les constituants d'un échantillon dans un milieu attracteur appelé « phase stationnaire », à l'aide d'un fluide porteur appelé « phase mobile ».

10 Ces techniques diffèrent par le type de phase stationnaire utilisé et par le mode d'introduction de l'échantillon dans la phase stationnaire. Plus précisément, en chromatographie liquide sur colonne (plus connue sous l'acronyme anglais HPLC pour High Performance Liquid Chromatography) l'échantillon et la phase mobile sont introduits dans une boucle d'injection qui alimente une colonne, 15 généralement cylindrique, contenant la phase stationnaire. L'opérateur contrôle le débit de la phase mobile dont l'injection s'effectue en continu, et par conséquent l'injection de l'échantillon se fait dans un système équilibré. Les constituants séparés de l'échantillon sortent de la colonne, puis sont élusés et détectés en continu. Cette technique permet une automatisation complète, mais elle ne permet 20 pas que plusieurs échantillons soient traités simultanément sur une même colonne ; seule la juxtaposition de plusieurs installations indépendantes peut permettre un traitement en parallèle. Par ailleurs, cette technique consomme une grande quantité de phase mobile.

En chromatographie planaire, on distingue deux sous-techniques appelées 25 chromatographie en couche mince (plus connue sous l'acronyme anglais TLC pour Thin Layer Chromatography) et chromatographie sous flux forcé (plus connue sous l'acronyme anglais OPLC pour OverPressured Layer Chromatography ou Optimum Performance Layer Chromatography). Dans ces deux sous-techniques planaires différents échantillons sont déposés en des endroits choisis sur une couche formant 30 la phase stationnaire, puis entraînés par la phase mobile selon un ordre connu

fonction de leur rétention. Dans la TLC les échantillons sont placés sur une phase stationnaire avant l'injection de la phase mobile. La phase stationnaire étant partiellement au contact de l'atmosphère, on constitue de ce fait un système à trois phases. Les échantillons ne sont pas élusés et la détection s'effectue dans un 5 détecteur externe après évaporation de la phase mobile. Dans l'OPLC, la phase stationnaire est hermétiquement isolée de l'atmosphère, et l'on exerce sur celle-ci une pression externe. Les échantillons peuvent être injectés avant la mise en mouvement de la phase mobile, comme dans le cas de la TLC, ou lorsque le système est équilibré, comme dans le cas de l'HPLC. De ce fait la détection peut 10 s'effectuer de façon semi-continue ou discontinue. Ces deux sous-techniques permettent d'effectuer des détections successives sur une multiplicité d'échantillons venant d'être traités, mais elles ne permettent pas une automatisation complète. De plus, elles s'effectuent de manière discontinue, limitant ainsi la productivité tout en augmentant les coûts de traitement des échantillons.

15 L'invention a pour but de résoudre tout ou partie des inconvénients présentés ci-dessus.

Elle propose à cet effet une installation de traitement d'échantillons par séparation chromatographique, dans laquelle on prévoit :

- \* des moyens d'alimentation permettant de délivrer au moins une phase mobile, 20 sous un débit choisi et/ou une pression limite choisie,
- \* des moyens d'approvisionnement permettant de délivrer séparément une multiplicité d'échantillons,
- \* une multiplicité de moyens d'injection (par exemple de type vanne d'injection à boucle interne ou externe) présentant chacun au moins une première entrée pour recevoir un échantillon délivré par les moyens d'approvisionnement, une seconde entrée pour recevoir la (ou les) phase(s) mobile(s), et une sortie pour délivrer la (ou 25 les) phase(s) mobile(s) et/ou l'échantillon,
- \* au moins une phase stationnaire qui définit au moins une multiplicité de canaux de traitement d'échantillon, chaque canal débutant en un premier endroit choisi et débouchant en un second endroit choisi, et 30

\* au moins une chambre logeant la phase stationnaire et comportant, d'une première part, des moyens de pressurisation externe pour appliquer une pression externe d'intensité choisie sur une face de la phase stationnaire, d'une seconde part, une multiplicité d'entrées raccordées chacune à la sortie d'un moyen d'injection, pour délivrer la (ou les) phase(s) mobile(s) et/ou les échantillons au niveau des différents premiers endroits, et d'une troisième part, au moins une première multiplicité de sorties pour évacuer la multiplicité d'échantillons traités dans les canaux et parvenus au niveau des différents seconds endroits.

L'expression « phase mobile » doit être comprise dans un sens large. Elle désigne tout fluide permettant de déplacer les constituants d'un échantillon sur une phase stationnaire, qu'il s'agisse d'un liquide, tel qu'un éluent, ou d'un gaz, tel que de l'air permettant de chasser (ou pousser) un solvant préalablement introduit dans la chambre de séparation.

L'invention présente ainsi les avantages des installations de type HPLC, pour ce qui concerne l'automatisation, et les avantages des installations de type OPLC, pour ce qui concerne le traitement simultané d'une multiplicité d'échantillons sur une unique phase stationnaire.

Selon une autre caractéristique de l'invention, l'installation comprend également des moyens de collecte permettant de collecter de façon individualisée chaque échantillon traité et/ou phase mobile délivré(s) par chacune des sorties de la chambre, en vue de le(s) stocker dans un récipient. La collecte peut être de type volumique, temporel ou à détection de seuil de signal. Par ailleurs, les moyens de collecte peuvent comporter une multiplicité de sorties et des moyens d'aiguillage pour délivrer selon les cas chaque échantillon et/ou phase mobile collecté au niveau de l'un des récipients et/ou au niveau de l'une des sorties.

Selon encore une autre caractéristique de l'invention, l'installation comprend des premiers moyens de détection (de préférence non invasifs, comme par exemple des détecteurs de photons visibles ou dans l'ultra-violet) permettant d'analyser simultanément, ou séquentiellement, les échantillons traités qui sont délivrés par les sorties de la chambre. Ces premiers moyens de détection peuvent être installés entre les sorties de la chambre et les moyens de collecte, ou bien en

aval des sorties des moyens de collecte (par exemple s'ils comportent des moyens d'aiguillage).

Avantageusement, l'installation peut également comporter des seconds moyens de détection permettant d'effectuer simultanément sur une multiplicité de 5 voies, ou séquentiellement sur une unique voie, par exemple en aval des premiers moyens de détection, d'autres analyses que celles effectuées avec les premiers moyens de détection. Ces seconds moyens de détection sont de préférence installés en parallèle des moyens de collecte, et effectuent, par exemple, une détection de fluorescence, une détection par réfractométrie, une détection par 10 diffraction de lumière, ou une détection par spectrométrie de masse.

L'installation peut comporter en outre d'autres caractéristiques, prises séparément et en combinaison, et notamment :

- \* des moyens de mémorisation pour stocker les résultats délivrés par les différents moyens de détection ;
- 15 \* des moyens d'approvisionnement comprenant un dispositif de préhension d'échantillon à déplacement tri-dimensionnel, permettant d'extraire les échantillons à traiter, contenus dans des conteneurs individualisés, pour alimenter les premières entrées des différents moyens d'injection ;
- \* une chambre agencée pour recevoir un tiroir extractible comprenant la phase 20 stationnaire, éventuellement intégré dans une cassette extractible;
- \* des moyens de régulation permettant de contrôler la température d'une partie au moins de la phase stationnaire à l'intérieur de la chambre.

L'installation présentée ci-avant est particulièrement adaptée aux applications suivantes : criblage de molécules, notamment par couplage de ligand 25 (immuno-chromatographie ou hybridation moléculaire), séparation par échange d'ions, préparation d'échantillons pour la chimie combinatoire ou l'extraction de produits naturels.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à l'examen de la description détaillée ci-après, et des dessins annexés, sur lesquels :

- la figure 1 illustre schématiquement un exemple d'installation selon l'invention,
- la figure 2 est une vue en coupe longitudinale d'une variante de colonne plate de type bidirectionnel, et
- la figure 3 est une vue en coupe longitudinale de deux colonnes plates bidirectionnelles montées en série.

Dans la description détaillée qui suit, il sera fait référence à une installation de traitement d'échantillons complexes par séparation chromatographique sous flux forcé (ou OPLC). On entend ici par traitement d'un échantillon, principalement la séparation des constituants qui le composent, couplée, éventuellement, à une ou plusieurs analyse(s) en ligne et/ou hors ligne de ces constituants séparés.

L'installation illustrée sur la figure 1 comporte tout d'abord un module de pompage 1, alimenté par un réservoir de fluide porteur 2, et de préférence au moins deux réservoirs contenant des fluides porteurs différents.

Les fluides porteurs (ou phases mobiles) sont généralement des solvants qui doivent être introduits dans l'installation sous une pression choisie, qui varie selon la résistance à l'écoulement à l'intérieur de la phase stationnaire 3 (ou colonne plate de séparation), qui sera décrite plus loin. Le module de pompage 1 comporte une ou plusieurs pompes à débit constant, mais programmables, et pouvant fonctionner séquentiellement ou simultanément selon les besoins, par exemple pour générer un mélange sous la forme d'un gradient continu. Les solvants sont distribués sous une pression qui est du même ordre de grandeur que la pression externe appliquée à la colonne plate de séparation 3. A cet effet, les pompes sont conçues pour délivrer des pressions comprises entre environ 1 bar et 100 bars, et typiquement de l'ordre de 50 bars.

Les gradients sont réalisés soit sous haute pression dans une chambre de mélange (non représentée) par une programmation des débits relatifs des pompes à l'aide d'un module de commande de l'installation (non représenté), soit sous basse pression à l'aide d'une vanne permettant une alternance rapide et programmée. Les pompes peuvent être agencées de manière à recevoir plusieurs jeux de têtes offrant une large gamme de débits. La pression externe appliquée sur

la plaque peut être régulée en fonction de la pression nécessaire pour réguler l'unité de séparation.

Préférentiellement, le volume mort qui se crée entre l'instant de préparation du mélange des solvants et l'instant d'introduction dans la colonne 3 est minimisé 5 par l'utilisation de têtes de pompe à volume réduit ainsi que par l'utilisation de capillaires d'alimentation de la colonne plate 3 de faible diamètre interne.

Egalement de préférence, le module de pompage 1 est agencé de manière à permettre l'utilisation de solvants organiques ou de solvants salins aqueux ou encore de combinaisons de ces solvants.

10 Les sorties du module de pompage 1 alimentent l'entrée d'un répartiteur 4 présentant par exemple une forme en étoile, ou toute autre forme permettant d'assurer un débit de fluides porteurs identique sur les différentes entrées d'alimentation 5 d'un contrôleur 6. Le nombre d'entrées est préférentiellement identique au nombre de canaux de séparation 12-i formés dans la phase 15 stationnaire 3.

Bien entendu, chaque sortie du répartiteur 4, qui alimente une entrée 5 du contrôleur 6, peut être équipée d'une vanne de contrôle d'accès de manière à permettre des traitements sur un nombre restreint de canaux 12 de la colonne plate 3, et ainsi éviter d'utiliser, à vide, certaines parties de la colonne plate.

20 Bien entendu, en variante, la répartition peut également se faire sous la forme de circuits micro-fluidiques, du type de ceux qui seront décrits plus loin avec le module de séparation 7.

Le contrôleur 6 est équipé d'un dispositif permettant de surveiller les caractéristiques des fluides porteurs qui circulent dans l'installation. Il pourra s'agir, 25 par exemple, de capteurs de pression permettant d'estimer la résistance à l'écoulement du débit de fluide programmé. Le contrôleur 6 peut également comporter des dispositifs d'équilibrage des pressions dans les différents canaux 12 de la colonne plate 3. Ces dispositifs d'équilibrage peuvent fonctionner, par exemple, par contrôle de l'écoulement. Il pourra s'agir, par exemple, de vannes à 30 débit variable.

Les différentes sorties du contrôleur 6 (ici au nombre de 9) alimentent des premières entrées 8-i (dans cet exemple i = 1 à 9) d'un module d'injection 9. Ce dernier comporte, de préférence, une multiplicité de vannes d'injection 10-i du type dit "à boucle interne" ou "à boucle externe". De telles vannes d'injection à boucle 5 sont bien connues de l'homme du métier, et par conséquent elles ne seront pas décrites en détail ici. Elles comportent chacune, en plus d'une première entrée 8-i, une seconde entrée 11-i pour recevoir un échantillon, une première sortie 13-i pour alimenter les canaux 12-i de la colonne plate 3, ainsi que, de préférence, une seconde sortie (non représentée) pour évacuer un trop-plein de solvant (ou fluide 10 porteur ou encore éluent) et/ou un trop-plein d'échantillon.

Les secondes entrées 11-i des différentes vannes d'injection 10-i sont soit toutes raccordées aux sorties parallèles d'un dispositif d'approvisionnement en échantillons 14 (qui contient en ce cas, et comme illustré, autant de sorties 27-i qu'il 15 y a de vannes d'injection), soit susceptibles d'être raccordées à l'extrémité d'un bras à déplacement tridimensionnel (de type XYZ) d'un robot.

Ce dispositif d'approvisionnement en échantillons (ou robot) 14 peut être utilisé, soit pour introduire au niveau des secondes entrées 11-i du module d'injection 9 des échantillons préalablement préparés, soit pour préparer lui-même les échantillons avant qu'ils ne soient acheminés au niveau desdites secondes 20 entrées 11-i. Dans ce second cas, la préparation des échantillons peut consister en une dilution dans le solvant qui alimente la première entrée 8-i de chaque vanne d'injection 10-i. Pour permettre ce type de préparation, il peut être avantageux de coupler le module de pompage 1 au dispositif d'approvisionnement 14.

D'autres types de préparation d'échantillons peuvent être envisagés. Ainsi, 25 il est possible d'adoindre à l'un des échantillons à traiter une molécule destinée à modifier son comportement spécifique lors de la séparation chromatographique dans la colonne plate 3, ou destinée à favoriser la détection de certaines molécules d'intérêt, par exemple par fluorescence.

Le mode de préparation par dilution peut être également utilisé pour 30 générer des gammes d'étalonnage.

L'introduction d'un échantillon (préparé ou non) peut s'effectuer à l'aide

d'une seringue introduite dans la seconde entrée 11-i de chaque vanne 10-i. Cette étape d'approvisionnement des vannes d'injection 10-i peut s'effectuer pendant un précédent cycle de séparation d'échantillons. Bien entendu, au lieu d'une unique aiguille manipulée par un bras à déplacement tridimensionnel, on peut prévoir une 5 multiplicité d'aiguilles (en nombre égal à celui des secondes entrées 11-i du module d'injection 9, de manière à permettre une introduction simultanée d'échantillons.

Les vannes d'injection 10-i peuvent posséder leur propre motorisation, ou bien une motorisation commune, pilotée par le robot d'approvisionnement ou directement par le module de commande, programmable. Comme mentionné 10 précédemment, ce module de commande pilote, de préférence, tous les composants de l'installation, et notamment le module de pompage 1, le répartiteur 4, le contrôleur 6, le robot d'approvisionnement 14, les différentes vannes d'injection 10-i, le module de séparation 7, et un module de détection 15 et un module de collecte 16 qui seront décrits plus loin.

15 Les premières sorties 13-i des vannes d'injection 10-i alimentent les différentes entrées du module de séparation 7. Celui-ci est réalisé sous la forme d'une chambre 17 adaptée pour recevoir au moins une couche formant la colonne plate de séparation 3 qui définit une ou deux phases stationnaires. Cette couche (ou en anglais "sorbent layer") peut être constituée de poudre ou particules de gel 20 de silicate, alumine, silicate de magnésium, talc à base de composants inorganiques, cellulose, résine synthétique, polyamides, à base de composants organiques, ou bien de dérivés ou mélanges de certains de ces composants. Elle est déposée sur une plaque support. Il est clair que le matériau utilisé et son état de surface (granularité, porosité et analogue) dépendent du type des échantillons à 25 traiter.

Bien entendu, l'injection peut s'effectuer simultanément (ou en parallèle), ou séquentiellement (ou en série).

La chambre de séparation 17 étant celle qui est classiquement utilisée en OPLC, elle ne sera donc pas décrite en détail ci-après. En d'autres termes, tout 30 type de chambre d'OPLC peut être utilisé dans une installation selon l'invention, qu'il s'agisse d'une chambre classique à joint périphérique ou d'une chambre

complexe à contrôle de pression du type de celle décrite dans le document brevet FR 0000063 de la demanderesse. D'autres types de chambres d'OPLC peuvent être également envisagées. Ainsi, on peut envisager une chambre dans laquelle on effectue la séparation des constituants d'échantillons en utilisant la face inférieure 5 de la phase stationnaire. On peut également envisager une chambre dans laquelle on effectue la séparation des constituants d'échantillons en utilisant simultanément les faces supérieure et inférieure de la phase stationnaire.

Préférentiellement, cette chambre 17 comporte un tiroir extractible à ouverture et fermeture automatisés, contrôlé par le module de commande, et dans 10 lequel peut être placé une ou plusieurs colonnes plates 3, ainsi qu'un dispositif permettant d'exercer une pression externe sur l'une des faces (supérieure ou inférieure) de la (ou chaque) colonne plate 3. Bien entendu, la chambre 17 comporte une multiplicité d'entrées pour alimenter les différents canaux 12-i formés dans la colonne plate 3. Par ailleurs, la chambre 17 comporte une multiplicité de 15 sorties 18-i pour évacuer les fluides et/ou les échantillons traités dans les différents canaux de séparation 12-i. Le tiroir extractible peut faire partie d'une cassette extractible réalisée sous la forme d'une boîte équipée d'entrées/sorties et de circuits fluidiques.

Préférentiellement, et comme illustré sur les figures 1 à 3, les canaux 12-i 20 formés dans la colonne plate 3 présentent, dans une vue en coupe longitudinale, une forme trapézoïdale, le petit côté du trapèze étant utilisé comme entrée 19-i du canal 12-i et le grand côté servant de sortie 20-i audit canal.

Cette forme trapézoïdale est particulièrement avantageuse dans la mesure où elle permet de créer un champ de vitesse décroissant (linéaire) suivant l'axe 25 longitudinal du canal 12-i. Ainsi, la partie postérieure d'un pic donné possède une vitesse supérieure à celle de la partie antérieure dudit pic, ce qui favorise la focalisation des pics.

Comme illustré sur les figures 2 et 3, et dans le but d'optimiser le nombre de canaux 12-i, on peut former sur une même colonne plate 3 une alternance de 30 premiers canaux 12-i, 12-i+2 (par exemple trapézoïdaux) dont les entrées 19-i, 19-i+2 sont toutes placées d'un même côté et de seconds canaux trapézoïdaux 12-i+1

dont les sorties 20-i+1 sont placées du côté des entrées des premiers canaux. Bien entendu, dans ce cas la chambre de séparation 17 comporte de chaque côté une alternance d'entrées et de sorties 19-i et 20-i.

Dans une autre variante, les entrées 13-i de la chambre 17 peuvent 5 alimenter un premier endroit choisi placé, sensiblement, au milieu de la colonne plate 3 et alimentant deux séries de canaux 12-i orientées de façon opposée en assurant ainsi un mode de séparation bi-directionnel comportant une multiplicité d'entrées et deux multiplicités de sorties, les deux multiplicités de canaux 12 ainsi formées pouvant être, éventuellement, formées dans des matériaux différents.

10 Dans le cas de canaux de forme trapézoïdale, au lieu de débuter la séparation au niveau du petit côté du trapèze (ce qui convient bien dans le cas d'une élution par un solvant de type isocratique), on peut débuter la séparation au niveau du grand côté du trapèze (ce qui convient bien dans le cas d'une élution par un gradient de solvant).

15 Bien entendu, d'autres formes de canaux peuvent être envisagées, et notamment des canaux présentant une entrée en forme d'entonnoir (ou évasée), prolongée par une partie principale sensiblement linéaire.

Par définition, on désigne par « premier endroit choisi » un endroit alimentant l'entrée 19-i d'un canal 12-i, et par « second endroit choisi » un endroit 20 alimenté par la sortie 20-i d'un canal 12-i.

Dans une autre variante, deux colonnes plates (ou plus) peuvent être superposées l'une au dessus de l'autre et séparées par leur base. Dans ce cas, les entrées et les sorties de la chambre peuvent être superposées.

Dans une autre variante illustrée sur la figure 3, on peut placer en série 25 deux colonnes plates différentes, ou bien une colonne plate 3 constituée de deux parties 21 et 22 réalisées dans des matériaux de préférence différents ou dans un même matériau mais présentant des propriétés différentes, par exemple des granulométries différentes. A titre d'exemple, on peut prévoir une grosse granulométrie en entrée, sur une petite distance, suivie par une granulométrie plus 30 fine, sur une grande distance.

Les colonnes plates 3 sont constituées, de préférence uniformément, d'une même phase stationnaire placée sur un même support (qu'il s'agisse d'un support de phase normale ou de phase inversée, ou d'un support pour l'échange d'ions ou pour la chromatographie d'affinité, ou encore pour la chromatographie d'exclusion).

5 Une autre variante consiste à placer en série deux colonnes plates, par exemple dans deux chambres successives, sur lesquelles sont mises en oeuvre deux techniques de chromatographie différentes, comme par exemple une chromatographie d'exclusion, suivie d'une chromatographie d'échange d'ions.

On peut également envisager de « séparer » les canaux par des barrières 10 fluidiques, par exemple en faisant circuler un éluant (ou l'éluant) entre lesdits canaux. Cela permet de réduire notamment les effets de bords des fronts d'échantillons dans les canaux.

On peut également envisager d'ajouter, en amont des entrées de la 15 chambre 17, une colonne de chromatographie pour chaque canal 12-i de la colonne plate 3 qui est logée dans cette chambre.

La phase stationnaire 3 placée à l'intérieur de la chambre 17 présente des dimensions standard, typiquement 200 mm x 200 mm x 0,005 à 5 mm.

Par ailleurs, et comme indiqué précédemment, la chambre comporte des moyens de pressurisation permettant d'appliquer une pression externe comprise 20 entre environ 1 bar et 100 bars, typiquement 50 bars. Préférentiellement, la pression peut être fixée par pas de 1 bar à +/- 0,5 bar près. Par ailleurs, cette pression externe est avantageusement homogène sur toute la surface.

A titre d'exemple non limitatif, les moyens de pressurisation peuvent 25 comporter un film flexible imperméable, par exemple en téflon, placé au-dessus de la face supérieure de la colonne plate 3. La pression qui est exercée sur ce film à l'aide d'un fluide de pressurisation plaque ledit film contre la face supérieure de la colonne plate en lui transférant la pression. Lorsque la colonne plate 3 est initialement logée dans une cassette destinée à être introduite dans la chambre 17, la paroi supérieure de la cassette peut, éventuellement, comprendre le film flexible 30 de pressurisation externe.

Le film flexible peut comporter des passages étanches pour l'introduction des échantillons à traiter et des solvants en regard des premiers endroits 19-i des canaux 12-i. On peut également, éventuellement, prévoir une chambre équipée d'entrées pour le fluide porteur et d'entrées pour les échantillons. Bien entendu,  
5 dans ce cas, les injecteurs 10-i ne servent qu'à alimenter la colonne plate en fluide porteur, les échantillons étant alors directement introduit au niveau des premiers endroits de la colonne plate 3.

L'installation selon l'invention peut en effet fonctionner soit par injection des échantillons au niveau du module d'injection 6, soit par injection des échantillons  
10 directement dans la chambre 17, soit encore par introduction des échantillons sur la colonne plate 3 avant que celle-ci ne soit placée à l'intérieur de la chambre 17.

La pression extérieure qui est appliquée sur la colonne plate 3 est, comme mentionné précédemment, programmée à l'aide du module de commande. Cette pression peut, selon les besoins, varier au cours du cycle de séparation.

15 Le fluide de pressurisation peut être un gaz ou un liquide tel que de l'huile. Ce fluide de pressurisation circule de préférence dans un circuit fermé qui débouche dans un réservoir de fluide de pressurisation externe, lequel peut être logé dans le module de pompage 1 et couplé à une micro-pompe contrôlée par le module de commande de l'installation.

20 D'autres moyens de pressurisation externe peuvent être envisagés, comme par exemple des moyens mécaniques, ou pneumatiques, ou analogues.

L'alimentation de la colonne plate 3 en fluide porteur et/ou échantillons peut être effectuée à l'aide de circuits micro-fluidiques construits entre deux lamelles en teflon, par exemple.

25 De préférence, les colonnes plates 3 utilisées sont de faible volume de manière à limiter la quantité de solvant (ou fluide porteur) nécessaire à la séparation en parallèle. Ainsi, une colonne de 100 µm d'épaisseur comportant 8 canaux de séparation parallèles, présente un volume total de 25µl par cm de longueur de colonne.

30 La colonne plate 3 (ou phase stationnaire) pourra comporter plusieurs

zones identiques ou différentes, chacune permettant d'effectuer un traitement particulier (séparation et/ou analyse). Dans ce cas, les moyens de pressurisation externe utilisés dans les différentes zones pourront être éventuellement différents, ou bien ils pourront être identiques mais assurer des pressions différentes.

5 De préférence, l'installation comporte également des moyens de régulation de température (non représentés). Ces moyens de régulation sont destinés à réguler en température la colonne plate 3 ainsi qu'éventuellement les solvants (ou fluides porteurs). Dans les séparations classiques, la température est fixée et maintenue pendant toute la phase de séparation. Cependant, dans certains cas, il  
10 est nécessaire de faire varier la température en cours de séparation de manière à modifier l'affinité ou l'hybridation de certaines molécules, par exemple.

En variante, au lieu de faire varier la température à l'intérieur d'une unique chambre de séparation, on prévoit un module de séparation 7 équipé de deux chambres 17 montées en série, dans lesquelles les températures sont différentes.  
15 Dans ce cas, comme on le verra plus loin, il est avantageux de prévoir, en sortie de la première chambre, des moyens de détection, de préférence de type non invasif, couplés à des vannes, de type trois voies, de manière à aiguiller vers la seconde chambre de séparation une fraction des composants d'échantillons séparés, et sélectionnés par les moyens de détection.

20 La chambre de séparation 17 peut, par ailleurs, comporter des électrodes alimentées par un module d'alimentation en courant à haute tension, en vue d'une séparation par électro-chromatographie ou électrophorèse. Ces électrodes peuvent être placées parallèlement ou perpendiculairement au débit, l'électrophorèse s'effectuant soit simultanément, soit séquentiellement, relativement à la séparation  
25 par la phase mobile. La séparation chromatographique et électrophorétique peut être effectuée simultanément ou séquentiellement sur la phase stationnaire pré-mouillée, en utilisant des électrodes parallèles ou perpendiculaires au flux. L'électrophorèse est bien entendu effectuée en phase humide (ou mouillée).

Le remplacement d'une colonne plate 3 dans la chambre de séparation 17  
30 se fait, de préférence, à l'aide d'un bras à déplacement tridimensionnel piloté par le module de commande. Il peut éventuellement s'agir du même bras que celui utilisé

pour alimenter les injecteurs 10-i en échantillons, mais il est préférable d'utiliser deux bras différents et spécialisés. Par exemple, le retrait du support sur lequel se trouve placé la colonne plate 3 peut s'effectuer à l'aide d'une ventouse placée à l'extrémité du bras, ou bien par collage magnétique (par exemple lorsque le support 5 de la phase stationnaire est métallisé on peut utiliser un outil de préhension équipé d'un électro-aimant).

La chambre de séparation 17 est agencée pour interdire l'évacuation de l'air contenu dans les canaux de séparation 12-i pendant que le fluide porteur (ou éluent ou encore phase mobile) se dirige vers l'entrée 19-i des canaux de séparation 12-i, jusqu'à ce que la pression d'alimentation en fluide porteur devienne 10 égale à 80% environ de la pression externe appliquée sur la colonne plate 3. Ensuite, les sorties 18-i sont ouvertes.

Comme cela est illustré sur la figure 1, les sorties 18-i de la chambre de séparation 17 alimentent un module de détection permettant d'effectuer un type 15 d'analyse choisi simultanément sur les différents échantillons séparés dans les canaux 12-i de la colonne plate 3. Par exemple, le module de détection 15 comporte une multiplicité de capillaires 23-i de diamètre interne choisi et présentant en au moins un endroit choisi une zone transparente pour permettre le passage d'un rayon lumineux de détection soit transversalement dans leur épaisseur, soit 20 longitudinalement lorsque le capillaire présente une forme repliée de type en « Z ». La détection transversale est préférable dans les applications préparatives, tandis que la détection longitudinale assure une meilleure sensibilité dans les applications analytiques.

Ce type de détection photonique non-invasive s'effectue de préférence 25 dans le domaine du visible et/ou de l'ultra-violet. Il est avantageux de prévoir dans une même installation plusieurs types de détection photonique dans des gammes de longueurs d'onde différentes, de manière à augmenter le nombre d'applications possible. Dans ce cas, le module de commande pilote le module de détection de manière à sélectionner une longueur d'onde choisie par l'utilisateur. La lumière de détection peut être acheminée au niveau des capillaires 23-i, à l'aide de fibres 30 optiques 24-i (partiellement représentées) et recueillie, après traversée des

capillaires, par d'autres fibres optiques (non représentées).

Bien entendu, d'autres types de détection peuvent être prévus soit à la place de la détection photonique décrite ci-avant, soit en complément de celle-ci (on parle alors de seconds moyens de détection). On citera par exemple la détection de 5 fluorescence, la détection par réfractométrie, la détection par diffraction de lumière, ou la détection par spectrométrie de masse.

Lorsque deux types différents de détection sont assurés par l'installation, il est préférable que ceux-ci soient montés en série, la détection non-invasive étant placée la plus en amont. La détection invasive peut porter sur tout ou partie du 10 volume fluidique ayant fait l'objet de la séparation.

Un multiplexage des échantillons traités peut être effectué soit en amont de l'injection dans le module de détection, soit dans le spray lorsque le module de détection est un spectromètre de masse.

Il est également possible d'effectuer une dérivation en amont ou aval de la 15 colonne plate 3 en adjoignant une molécule destinée à révéler directement ou indirectement les molécules séparées. Il pourra s'agir, par exemple, de molécules de colorant ou fluorescentes. Les modalités de cette adjonction doivent respecter les paramètres nécessaires à l'expression optimale de la coloration (par exemple des molécules de nihydrine adjointes aux acides aminés).

20 Préférentiellement et comme illustré sur la figure 1, l'installation comporte un module de collecte de fluide (ou phase mobile) 16, alimenté par les sorties du module de détection 15. Avantageusement, la collecte s'effectue de façon individualisée (ou en parallèle) sur chacune des sorties du module de détection 15, par exemple à l'aide de récipients de collecte 25-i indépendants les uns des autres. 25 Pour collecter les composants séparés, on peut utiliser des récipients de type tube ou microplaques ou analogue.

En variante, on peut prévoir en sortie de chaque voie de détection deux récipients de collecte indépendants, couplés à une vanne trois voies pilotée par le module de commande en fonction des résultats de la détection. Ainsi, il est possible 30 d'aiguiller des fractions non intéressantes des échantillons séparés dans l'un des

récipients pour récolter dans l'autre récipient les fractions jugées intéressantes lors de la détection. Une telle vanne trois voies peut être placée directement à l'extrémité des capillaires 23-i du module de détection 15.

Dans une autre variante, illustrée sur la figure 1, on prévoit également une 5 multiplicité de vannes trois voies 28-i en sortie des capillaires 23-i, mais cette fois-ci, l'une des sorties de chaque vanne 28-i gère l'accès à un récipient 25-i tandis que l'autre sortie alimente un second module de détection 29-i.

Le second module de détection (ou seconds moyens de détection 29-i) peut selon les variantes effectuer soit une analyse simultanée sur une multiplicité 10 de voies, soit une analyse séquentielle sur une unique voie, des échantillons traités. Ces seconds moyens de détection sont choisis, de préférence, dans un groupe comprenant un module de détection de fluorescence, un module de détection par réfractométrie, un module de détection par diffraction de lumière, et un module de spectrométrie de masse.

15 D'une façon générale, tout type de collecte peut être envisagé, soit en volume (par exemple on collecte tous les n millilitre), soit en temps (par exemple on collecte toutes les n secondes), soit en détection de signal sur un canal, par comparaison à un seuil ou bruit de fond.

Préférentiellement, le module de commande est couplé à (ou intégré dans) 20 un ordinateur 26 comportant des moyens d'affichage 27, tels qu'un moniteur, et des moyens d'interface utilisateur, pour permettre la programmation des composants de l'installation et l'affichage des résultats des détections simultanées, fournis par les différents modules de détection (15,29).

Comme indiqué précédemment, l'installation peut fonctionner selon 25 plusieurs modes. Dans un premier mode de fonctionnement, dit "d'infusion-transfusion" ou "en ligne", les constituants séparés par les canaux 12-i de la colonne plate 3 sont identifiés et/ou quantifiés sur cette même colonne plate 3 et/ou en dehors de la chambre 17 par analyse de la phase mobile délivrée sur ses différentes sorties 18-i. Dans ce mode de fonctionnement, il est possible d'introduire 30 l'échantillon sur la colonne plate 3 (ou phase stationnaire) avant infusion, c'est-à-dire avant introduction de la phase mobile. Mais, il peut en être autrement, une

étape d'infusion précédent alors l'introduction de l'échantillon. Le volume nécessaire à une telle infusion est connu du module de commande dès lors que celui-ci connaît le type de phase stationnaire utilisé.

5        Lorsque l'installation fonctionne dans ce mode d'infusion/transfusion, les moyens d'infusion/transfusion sont de préférence placés en sortie (il s'agit par exemple d'une vanne de contrôle placée en sortie de la phase stationnaire, comme décrit dans le document FR 0000063), de manière à faciliter le conditionnement d'une nouvelle colonne et à limiter les microbulles d'air qui sont dommageables à la détection des constituants séparés des échantillons.

10      Dans un second mode de fonctionnement, dit "d'infusion" ou "hors ligne", on n'effectue qu'une séparation des constituants de l'échantillon sur la colonne plate 3, l'analyse (ou détermination) et/ou la quantification de ces constituants s'effectuant dans un analyseur externe après extraction de la colonne plate 3 de l'intérieur de la chambre de séparation 17. Tout type d'analyse connu de l'homme 15 du métier peut être envisagé. Dans ce mode d'infusion, l'échantillon peut être placé avant ou après introduction de la phase stationnaire à l'intérieur de la chambre de séparation 17. Préférentiellement, on part d'une phase stationnaire 3 "sèche", c'est-à-dire avant qu'elle ne soit alimentée en phase mobile (ou fluide porteur). Dans le mode d'infusion-transfusion, une fois que la séparation est terminée, l'analyse des 20 constituants est effectuée sur la phase stationnaire 3 et/ou à l'extérieur en utilisant la phase mobile qui sort de la chambre de séparation 17 par ses sorties 18-i.

L'invention concerne également un procédé de traitement d'échantillons par séparation chromatographique destiné à être mis en œuvre dans une installation du type de celle présentée ci-avant.

25      De nombreuses applications peuvent être envisagées pour l'installation selon l'invention. Une première application concerne les séparations dites « en phase normale » et « en phase inversée ». La phase normale concerne plus directement les molécules ou macromolécules de type hydrophile, tandis que la phase inversée concerne plus directement les molécules de type hydrophobe 30 utilisées dans les phases stationnaires dites « C8 » (comportant des chaînes carbonées de huit carbones) ou « C18 » (comportant des chaînes carbonées de

dix-huit carbones)).

Par exemple, l'analyse des métabolites se fait classiquement en phase inversée, de nombreux échantillons devant être analysés dans un temps très court. Dans ce cas, il est avantageux que les injecteurs du module d'injection préparent 5 les échantillons en extrayant les métabolites du milieu biologique. Le module de pompage réalise, pour ce faire, un gradient de solvant d'acétonitrile (pur ou mélangé ou de méthanol (pur ou mélangé).

Une seconde application concerne le criblage (ou en anglais "screening") de molécules. Dans ce cas, un ligand est couplé sur la tête de la phase stationnaire 10 de la colonne selon les techniques connues dans le domaine de la chromatographie d'affinité. Les molécules ou macromolécules sont alors injectées dans les canaux de séparation 12-i, et celles qui présentent une affinité pour le ligand sont retenues par celui-ci, tandis que les autres sont lavées et éliminées de la colonne. Ensuite, on effectue une élution à l'aide d'un solvant approprié 15 (présentant une haute concentration en sel, ou en augmentant la température, ou en utilisant un agent dénaturant), de manière à décrocher les molécules affines. Un autre exemple concerne la greffe d'un ligand spécifique pour chaque canal de séparation 12-i. A chaque cycle, une même molécule ou macromolécule est injectée dans les différents canaux de séparation de manière à tester son affinité 20 avec une multiplicité de ligands différents. Cela permet d'effectuer un criblage d'une bibliothèque de molécules ou macromolécules simultanément.

Une forme particulière de chromatographie d'affinité est l'immuno-chromatographie, dans laquelle le ligand est un anticorps, de préférence monoclonal. Une autre forme de chromatographie d'affinité est l'hybridation 25 moléculaire, dans laquelle le ligand est une chaîne d'acide nucléique complémentaire de l'acide nucléique que l'on cherche à analyser ou à séparer.

Une troisième application concerne la séparation par échange d'ions.

Une quatrième application concerne les applications préparatives notamment en chimie combinatoire ou en extraction de produits naturels.

30 Toutes les techniques précitées sont bien connues de l'homme du métier.

L'invention ne se limite pas aux modes de réalisation de dispositifs et de procédés décrits ci-dessus, seulement à titre d'exemple, mais elle englobe toutes les variantes que pourra envisager l'homme du métier dans le cadre des revendications ci-après.

5 Ainsi, selon les positionnements respectifs des premier(s) et second(s) endroits choisis la séparation pourra être unidirectionnelle ou bien bidirectionnelle, ou circulaire, ou encore anti-circulaire. Mais tout cela est bien connu de l'homme du métier, et ne fait pas l'objet de la présente invention.

Par ailleurs, on a décrit une installation dans laquelle la chambre de 10 séparation ne traitait qu'une ou plusieurs phases stationnaires placées les unes à côté des autres sur un même support. Mais la chambre peut être adaptée pour recevoir plusieurs phases stationnaires empilées les unes sur les autres, avec ou sans support, et utilisées en série ou en parallèle, avec ou sans intercalaire.

En outre, on a décrit un mode de réalisation dans lequel on introduisait une 15 phase mobile liquide pour entraîner les constituants de l'échantillon. Mais, l'invention s'applique également lorsque l'on introduit tout d'abord un solvant puis que l'on utilise un gaz tel que de l'air pour déplacer (chasser) le solvant mélangé aux constituants de l'échantillon. L'air sert alors, en quelque sorte, de phase mobile. Cette technique est connue sous le nom de chromatographie « flash ». Il en résulte 20 que dans tout ce qui précède, la phase mobile doit être prise dans une définition large, à savoir « fluide d'entraînement ».

Revendications

1. Installation de traitement d'échantillons par séparation chromatographique, caractérisée en ce qu'elle comprend :
  - 5 \* des moyens d'alimentation en phase mobile (1,2,4), sous un débit choisi et/ou une pression limite choisie,
  - \* des moyens d'approvisionnement (14) agencés pour délivrer séparément une multiplicité d'échantillons,
  - \* une multiplicité de moyens d'injection (10-i) comportant chacun au moins une 10 première entrée (11-i) propre à recevoir un échantillon délivré par lesdits moyens d'approvisionnement (14), une seconde entrée (8-i) raccordée aux moyens d'alimentation, et au moins une sortie (13-i) agencée pour délivrer la phase mobile et/ou l'échantillon,
  - \* au moins une phase stationnaire (3) définissant au moins une multiplicité de 15 canaux (12-i) de traitement d'échantillon débutant chacun en un premier endroit choisi (19-i) et débouchant en un second endroit choisi (20-i), et
  - \* au moins une chambre (17) agencée pour loger ladite phase stationnaire (3) et comportant i) des moyens de pressurisation externe propres à appliquer une pression externe d'intensité choisie sur une face de la phase stationnaire, ii) une 20 multiplicité d'entrées raccordées chacune à la sortie (13-i) d'un moyen d'injection (10-i) de manière à délivrer la phase mobile et/ou lesdits échantillons au niveau des différents premiers endroits (19-i), et iii) au moins une première multiplicité de sorties (18-i) pour évacuer la multiplicité d'échantillons traités dans les canaux (12-i) et parvenus au niveau des différents seconds endroits.
- 25 2. Installation selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits moyens d'injection (10-i) sont choisis dans un groupe comprenant les vannes d'injection à boucle interne et les vannes d'injection à boucle externe.
3. Installation selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce qu'elle comprend des moyens de collecte (16) agencés pour collecter chaque

échantillon traité et/ou phase mobile délivré(s) par chacune des sorties (18-i) de la chambre (17), en vue de le(s) stocker dans un récipient (25-i) d'une multiplicité de récipients.

4. Installation selon la revendication 3, caractérisée en ce que lesdits moyens de collecte (16) sont agencés pour effectuer la collecte selon un mode choisi dans un groupe comprenant le mode volumique, le mode temporel et le mode de détection de seuil de signal.

5. Installation selon l'une des revendications 3 et 4, caractérisée en ce que lesdits moyens de collecte (16) comportent une multiplicité de sorties et des moyens d'aiguillage (28-i) agencés pour délivrer sur ordre chaque échantillon et/ou phase mobile collectée au niveau de l'un desdits récipients et/ou au niveau de l'une desdites sorties.

10. Installation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce qu'elle comprend des premiers moyens de détection (15) agencés pour analyser séquentiellement les échantillons traités délivrés par les différentes sorties (18-i) de la chambre (17).

15. Installation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce qu'elle comprend des premiers moyens de détection (15) agencés pour analyser simultanément les échantillons traités délivrés par les différentes sorties (18-i) de la chambre (17).

20. Installation selon la revendication 7 en combinaison avec l'une des revendications 3 à 5, caractérisée en ce que lesdits premiers moyens de détection (15) sont installés entre lesdites sorties (18-i) de la chambre (17) et lesdits moyens de collecte (16).

25. Installation selon l'une des revendications 3 à 8, caractérisée en ce que lesdits premiers moyens de détection (15) sont agencés pour effectuer une détection de type non invasif, en particulier une détection photonique dans le domaine du visible et/ou de l'ultra-violet.

30. Installation selon l'une des revendications 8 et 9, caractérisée en ce qu'elle comprend des seconds moyens de détection (29-i) agencés pour analyser

simultanément sur une multiplicité de voies, ou séquentiellement sur une unique voie, les échantillons traités.

11. Installation selon la revendication 10, caractérisée en ce que lesdits seconds moyens de détection sont choisis dans un groupe comprenant un module 5 de détection de fluorescence, un module de détection par réfractométrie, un module de détection par diffraction de lumière, et un module de spectrométrie de masse.

12. Installation selon l'une des revendications 3 à 11, caractérisée en ce qu'elle comprend des moyens de mémorisation (26) agencés pour stocker les résultats délivrés par lesdits moyens de détection (15,29).

10 13. Installation selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisée en ce que ladite chambre (17) comporte des électrodes alimentées par un module d'alimentation en courant à haute tension, de manière à effectuer une séparation par électro-chromatographie, lesdites électrodes étant placées parallèlement ou perpendiculairement au débit.

15 14. Installation selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisée en ce que lesdits moyens d'approvisionnement en échantillons (14) comprennent un dispositif de préhension d'échantillon à déplacement tri-dimensionnel, agencé pour alimenter en échantillons les différentes premières entrées (11-i) des moyens d'injection (10-i).

20 15. Installation selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que ladite chambre (17) est agencée pour recevoir un tiroir extractible comprenant ladite phase stationnaire.

16. Installation selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisée en ce qu'elle comprend des moyens de régulation agencés pour contrôler la température 25 d'une partie au moins de la phase stationnaire (3) à l'intérieur de la chambre (17).

17. Installation selon l'une des revendications 1 à 16, caractérisée en ce que certains au moins desdits canaux (12-i) formés sur une phase stationnaire (3) présentent une forme sensiblement trapézoïdale.

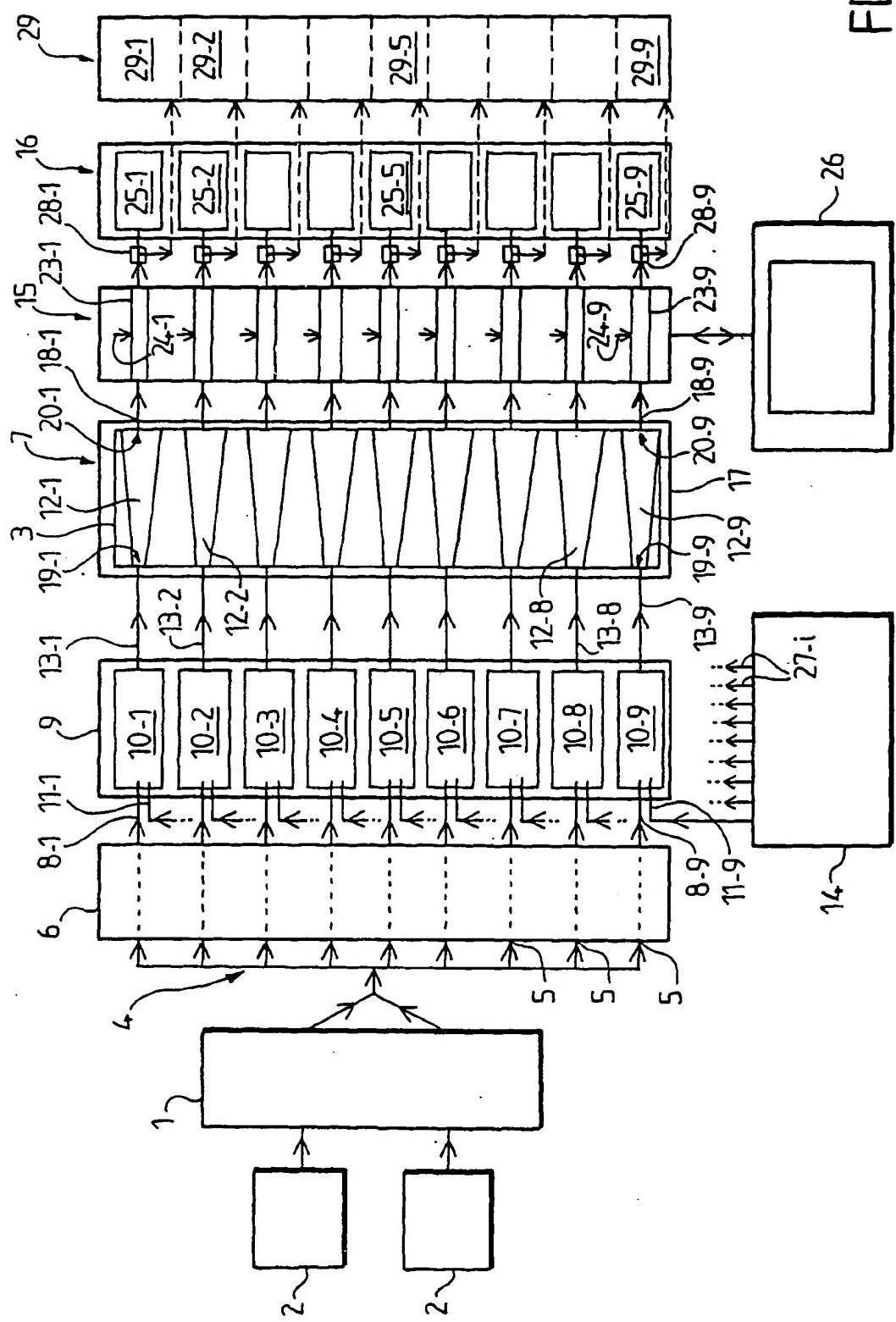
30 18. Application de l'installation selon l'une des revendications précédentes à la séparation en phase normale ou en phase inversée.

19. Application de l'installation selon l'une des revendications 1 à 17 au criblage de molécules par chromatographie d'affinité, en particulier par immuno-chromatographie ou par hybridation moléculaire.

20. Application de l'installation selon l'une des revendications 1 à 17 à la séparation par échange d'ions.

21. Application de l'installation selon l'une des revendications 1 à 17 à la préparation d'échantillons pour la chimie combinatoire ou l'extraction de produits naturels.

FIG. 1



2/2

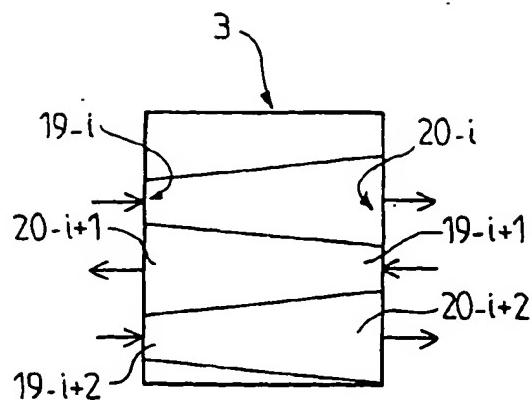


FIG. 2

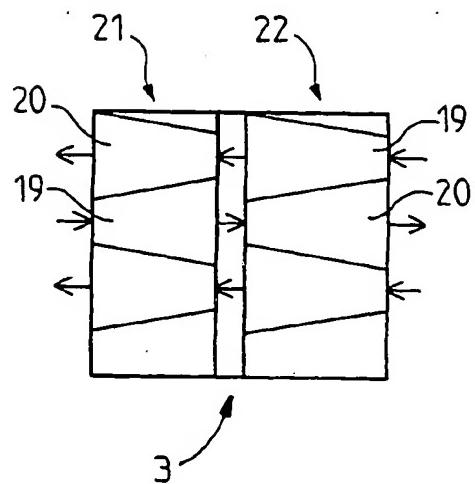


FIG. 3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 02/01201

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 G01N30/46 G01N30/90

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>E. MINCSOVICS ET AL.: "Personal overpressured-layer chromatography (OPLC) basic system 50, flexible tool in analytical and semipreparative work" JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL, vol. 82, no. 3, May 1999 (1999-05), pages 587-598, XP002186312 ISSN 1060-3271 page 588-589</p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	1,18-21

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the International filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search	Date of mailing of the International search report
18 July 2002	25/07/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Zinngrebe, U

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 02/01201

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	NYIREDY S: "The bridge between TLC and HPLC: overpressured layer chromatography (OPLC)" TRAC, TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY, ANALYTICAL CHEMISTRY. CAMBRIDGE, GB, vol. 20, no. 2, February 2001 (2001-02), pages 91-101, XP004249002 ISSN: 0165-9936 page 92-93	1,18-21
A	MINCSOVICS E ET AL: "OVERPRESSURED LAYER CHROMATOGRAPHY" HANDBOOK OF THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY, DEKKER, NEW YORK, NY, US, vol. 71, 1996, pages 171-203, XP000938308 page 184-188	1,18-21
A	STAN H-J ET AL: "On-line coupling of liquid chromatography with thin-layer chromatography" JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A, ELSEVIER SCIENCE, NL, vol. 819, no. 1-2, 11 September 1998 (1998-09-11), pages 35-44, XP004145895 ISSN: 0021-9673 abstract; figure 1	1,18-21
A	WO 92 03726 A (LABORATORIUMI MUESZERGYAR RT) 5 March 1992 (1992-03-05) abstract; figures 12,15	1,18-21
A	WO 01 16284 A (BROWN DENNIS ;LEYTES LEV (US); MEDALYS CORP (US)) 8 March 2001 (2001-03-08) abstract; figures 1,2,10	1,18-21
A	WO 00 31528 A (ANALYTICON AG ;BINKELE JOERG (DE); GUMM HOLGER (DE); GOD RALF (DE)) 2 June 2000 (2000-06-02) abstract; figure 1A	1,18-21
A	US 6 080 318 A (GUMM HOLGER ET AL) 27 June 2000 (2000-06-27) abstract; figure 1	1,18-21

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 02/01201

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 9203726	A	05-03-1992	HU WO	60934 A2 9203726 A1	30-11-1992 05-03-1992	
WO 0116284	A	08-03-2001	AU WO	7826500 A 0116284 A1	26-03-2001 08-03-2001	
WO 0031528	A	02-06-2000	DE AU DE WO EP	29910725 U1 1560600 A 19957490 A1 0031528 A1 1131627 A1	12-08-1999 13-06-2000 29-06-2000 02-06-2000 12-09-2001	
US 6080318	A	27-06-2000	DE DE AT DE WO EP	19641210 A1 29617376 U1 217536 T 59707302 D1 9813118 A1 0946236 A1	02-04-1998 21-11-1996 15-06-2002 20-06-2002 02-04-1998 06-10-1999	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No  
PCT/FR 02/01201

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 G01N30/46 G01N30/90

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suiv des symboles de classement)  
CIB 7 G01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>E. MINCSOVICS ET AL.: "Personal overpressured-layer chromatography (OPLC) basic system 50, flexible tool in analytical and semipreparative work" JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL, vol. 82, no. 3, mai 1999 (1999-05), pages 587-598, XP002186312 ISSN 1060-3271 page 588-589</p> <p>---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1,18-21

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant laisser un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

18 juillet 2002

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25/07/2002

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Zinngrebe, U

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No  
PCT/FR 02/01201

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	NYIREDY S: "The bridge between TLC and HPLC: overpressured layer chromatography (OPLC)" TRAC, TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY, ANALYTICAL CHEMISTRY. CAMBRIDGE, GB, vol. 20, no. 2, février 2001 (2001-02), pages 91-101, XP004249002 ISSN: 0165-9936 page 92-93	1,18-21
A	MINCSOVICS E ET AL: "OVERPRESSURED LAYER CHROMATOGRAPHY" HANDBOOK OF THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY, DEKKER, NEW YORK, NY., US, vol. 71, 1996, pages 171-203, XP000938308 page 184-188	1,18-21
A	STAN H-J ET AL: "On-line coupling of liquid chromatography with thin-layer chromatography" JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A, ELSEVIER SCIENCE, NL, vol. 819, no. 1-2, 11 septembre 1998 (1998-09-11), pages 35-44, XP004145895 ISSN: 0021-9673 abrégé; figure 1	1,18-21
A	WO 92 03726 A (LABORATORIUMI MUESZERGYAR RT) 5 mars 1992 (1992-03-05) abrégé; figures 12,15	1,18-21
A	WO 01 16284 A (BROWN DENNIS ;LEYTES LEV (US); MEDALYS CORP (US)) 8 mars 2001 (2001-03-08) abrégé; figures 1,2,10	1,18-21
A	WO 00 31528 A (ANALYTICON AG ;BINKELE JOERG (DE); GUMM HOLGER (DE); GOD RALF (DE)) 2 juin 2000 (2000-06-02) abrégé; figure 1A	1,18-21
A	US 6 080 318 A (GUMM HOLGER ET AL) 27 juin 2000 (2000-06-27) abrégé; figure 1	1,18-21

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale N°

PCT/FR 02/01201

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 9203726	A 05-03-1992	HU 60934 A2 WO 9203726 A1		30-11-1992 05-03-1992
WO 0116284	A 08-03-2001	AU 7826500 A WO 0116284 A1		26-03-2001 08-03-2001
WO 0031528	A 02-06-2000	DE 29910725 U1 AU 1560600 A DE 19957490 A1 WO 0031528 A1 EP 1131627 A1		12-08-1999 13-06-2000 29-06-2000 02-06-2000 12-09-2001
US 6080318	A 27-06-2000	DE 19641210 A1 DE 29617376 U1 AT 217536 T DE 59707302 D1 WO 9813118 A1 EP 0946236 A1		02-04-1998 21-11-1996 15-06-2002 20-06-2002 02-04-1998 06-10-1999